

**PENGARUH PEMBERIAN MADU SUMBAWA TERHADAP
AKTIVITAS *SERUM GLUTAMIC PIRUVIC TRANSAMINASE*
(SGPT) DAN *SERUM GLUTAMIC OXALOACETIC*
TRANSAMINASE (SGOT) PADA TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG
DIINDUKSI DIAZINON**

SKRIPSI

Oleh :

FIRDAUSI FAUZULA INAYAH

145130101111002



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

**PENGARUH PEMBERIAN MADU SUMBAWA TERHADAP
AKTIVITAS *SERUM GLUTAMIC PIRUVIC TRANSAMINASE*
(SGPT) DAN *SERUM GLUTAMIC OXALOACETIC*
TRANSAMINASE (SGOT) PADA TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG
DIINDUKSI DIAZINON**

SKRIPSI

*Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan*

Oleh :

FIRDAUSI FAUZULA INAYAH

145130101111002



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN MADU SUMBAWA TERHADAP AKTIVITAS *SERUM GLUTAMIC PIRUVIC TRANSAMINASE* (SGPT) DAN *SERUM GLUTAMIC OXALOACETIC* *TRANSAMINASE* (SGOT) PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI DIAZINON

Oleh :
FIRDAUSI FAUZULA INAYAH
NIM. 145130101111002

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 6 Agustus 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Menyetujui,
Komisi Pembimbing Skripsi

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Dra. Anna Roosdiana, M. App., Sc
NIP. 195807111992032002

drh. Nurina Titisari, M. Sc
NIP.19860122201504 2 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 1898802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : FIRDAUSI FAUZULA INAYAH

NIM : 145130101111002

Program Studi : Pendidikan Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Pemberian Madu Sumbawa Terhadap Aktivitas *Serum Glutamic Piruvic Transaminase* (SGPT) Dan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Diazinon

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 6 Agustus 2018

yang menyatakan,

FIRDAUSI FAUZULA INAYAH

NIM. 145130101111002

Pengaruh Pemberian Madu Sumbawa Terhadap Aktivitas *Serum Glutamic Piruvic Transaminase (SGPT)* Dan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT)* Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Diazinon
ABSTRAK

Diazinon merupakan salah satu pestisida yang digunakan sebagai bahan pembasmi hama pada pertanian yang dapat mencemari lingkungan termasuk bahan pangan dan air. Diazinon adalah zat xenobiotik yang dimetabolisme di hepar dan menghasilkan senyawa radikal bebas berupa *oxono-organofosfat* yang mampu merusak sel bila terpapar secara kronis. Paparan diazinon secara terus-menerus dapat memicu ketidak seimbangan antara radikal bebas dan antioksidan endogen dan menimbulkan stres oksidatif yang akan merusak sel tubuh termasuk hepatosit. Pemeriksaan klinis untuk mengetahui kerusakan hepar dapat diketahui melalui aktivitas Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) dan Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT). Madu Sumbawa kaya akan vitamin C dan polifenol sebagai antioksidan eksogen yang digunakan untuk menangkap radikal bebas dan mencegah kerusakan hepatoseluler berkelanjutan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian madu Sumbawa pada tikus yang diinduksi diazinon berdasarkan aktivitas Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) dan Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) pada serum darah. Tikus dalam penelitian ini yaitu tikus jantan strain Wistar dengan berat 130-180 gram yang dibagi dalam 5 kelompok. K- adalah kelompok kontrol negatif yang tidak diberi diazinon dan madu Sumbawa. K+, P1, P2, dan P3 merupakan kelompok yang diberikan diazinon dosis 60 mg/kgBB selama 7 hari. Kelompok P1, P2 dan P3 diberikan madu Sumbawa 25%, 50% dan 75% sebanyak 1 mL berturut-turut selama 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa madu Sumbawa berpengaruh secara signifikan menurunkan aktivitas SGPT dan SGOT darah tikus kelompok P1, P2, dan P3 hasil induksi diazinon dibandingkan dengan K+. Madu Sumbawa konsentrasi 75% mampu menurunkan SGPT sebesar 36.61% dan SGOT sebesar 57.31% dibandingkan dengan kelompok K+. Kesimpulan penelitian ini yaitu pemberian madu Sumbawa konsentrasi 25%, 50%, dan 75% mampu menurunkan aktivitas SGPT dan SGOT secara signifikan dengan konsentrasi terbaik yaitu 75% yang dapat digunakan sebagai terapi tambahan untuk mengatasi kerusakan hepar yang terpapar diazinon.

Kata kunci: diazinon, madu Sumbawa, SGOT dan SGPT

The Effect of Sumbawa Honey to the Activity of *Serum Glutamic Piruvic Transaminase* (SGPT) and *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) in Rats (*Rattus norvegicus*) Induced by Diazinon

ABSTRACT

Diazinon is one of pesticide which used to eradicate of pests in agriculture product and can affect the environment by contaminating food and water. Diazinon is a xenobiotic agent and metabolized in liver that can produce free radical compounds of *oxono-organophosphat* that can damage cells when exposed chronically. The clinical examination to determine liver damage can be known through the activity of Serum Glutamate Pyruvate Transaminase (SGPT) and Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase (SGOT). The exposure of diazinon continuously can trigger an imbalance of endogenous antioxidants and free radicals compound which called as oxidative stress that can damage the body cells including hepatocytes. Sumbawa honey are rich in vitamin C and polyphenols as exogenous antioxidants that used to neutralized free radicals compound and prevent hepatocyte damage. This research aimed to study the effect of administering Sumbawa honey in rat that induced by diazinon based on the activities of *Serum Glutamic Piruvic Transaminase* (SGPT) and *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) in blood serum. This study used male rats of Wistar strain (*Rattus norvegicus*) weighing of 130-180 grams. The group K- was a group of negative control which were not induced diazinon and Sumbawa honey. The group of K-, P1, P2 and P3 were given 60 mg/kgBW diazinon for 7 days. Group of K+ as a positive control were not given Sumbawa honey. Group of P1, P2 and P3 were given the Sumbawa honey with 25%, 50% and 75% in 1 mL once a day during 14 days respectively. The results showed that Sumbawa honey significantly influenced the SGPT and SGOT activities in blood compared to the K+ group. The Sumbawa honey concentration of 75% was able to decrease SGPT to be 36.61% and SGOT to be 57.31% compared to K+ group. The conclusion of this research was the administration of Sumbawa honey with a concentration of 25%, 50% and 75% can significantly reduce SGPT and SGOT activity with the best concentration of Sumbawa honey is 75% which can be used as adjunct therapy of liver damage caused by diazinon.

Keyword: Diazinon, SGOT, SGPT and Sumbawa honey

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamiin, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga skripsi yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Madu Sumbawa Terhadap Aktivitas *Serum Glutamic Piruvic Transaminase* (SGPT) Dan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Diazinon”** ini dapat terselesaikan.

Penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada seluruh pihak yang secara langsung maupun tidak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Dra. Anna Roosdiana, M. App, Sc. selaku dosen pembimbing I yang telah bersedia membimbing dan memotivasi penulis dalam menyusun skripsi ini.
2. drh. Nurina Titisari, M. Sc. Selaku dosen pembimbing II yang telah bersedia membimbing dan memotivasi penulis dalam menyusun skripsi ini.
3. drh. Dodik Prasetyo, M. Vet dan Dhita Evi A., S. Farm, Apt. M. Farm., Klin. selaku dosen penguji atas koreksi-koreksi yang membangun.
4. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya beserta jajarannya.
5. Keluarga penulis Ayahanda Ali, Ibunda Mas Dewi Khumairana serta kakak tercinta Nur Indah Firdaus atas kasih sayangnya, doa, serta dukungan terhadap penulis baik moril maupun materi.
6. Muhammad Ekki Sulistiawan beserta Bapak, Ibu dan Adik yang tanpa henti mendukung dan mendoakan penulis.
7. Teman-teman kelompok skripsi “Sahabat Lebah Madu Sumbawa”, kos putri “Vinolia Squad”, bisnis “Claw Scrub”, anak-anak “Together”, teman-teman kelas C “CHELONIA '14 ” tercinta.
8. Seluruh sahabat “AVENGERS 2014” atas semangat dan kebersamaan selama menempuh pendidikan di FKH UB.
9. Staf akademik FKH UB yang telah banyak membantu dan membimbing penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, maka saran dan kritikan yang membangun dari semua pihak akan sangat diharapkan demi penyempurnaan selanjutnya.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala amal kebaikan yang telah diberikan serta tugas akhir skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi tambahan dan pengetahuan untuk banyak orang.

Malang, 6 Agustus 2018

Penulis



DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iii

ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Batasan Masalah	3
1.4. Tujuan	4
1.5. Manfaat	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Diazinon	6
2.2. Mekanisme Toksisitas Diazinon	7
2.3. Hepar	8
2.4. SGPT dan SGOT	11
2.5. Radikal Bebas	13
2.6. Madu Sumbawa	14
2.7. Hewan Coba Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	17
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1. Kerangka Konseptual	19
3.2. Hipotesis Penelitian	2
BAB 4. METODE PENELITIAN	
4.1. Waktu dan Tempat Penelitian	22
4.2. Alat dan Bahan	22
4.3. Rancangan Penelitian	23
4.4. Tahapan Penelitian	25
4.5. Variabel Penelitian	25
4.6. Prosedur Kerja	25
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Aktivitas SGPT dalam Serum Darah Tikus yang Diinduksi Diazinon dan Diterapi Madu Sumbawa	29
5.2 Aktivitas SGOT dalam Serum Darah Tikus yang Diinduksi Diazinon dan Diterapi Madu Sumbawa	34
BAB 6 KESIMPULAN	
6.1 Kesimpulan	39
6.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40

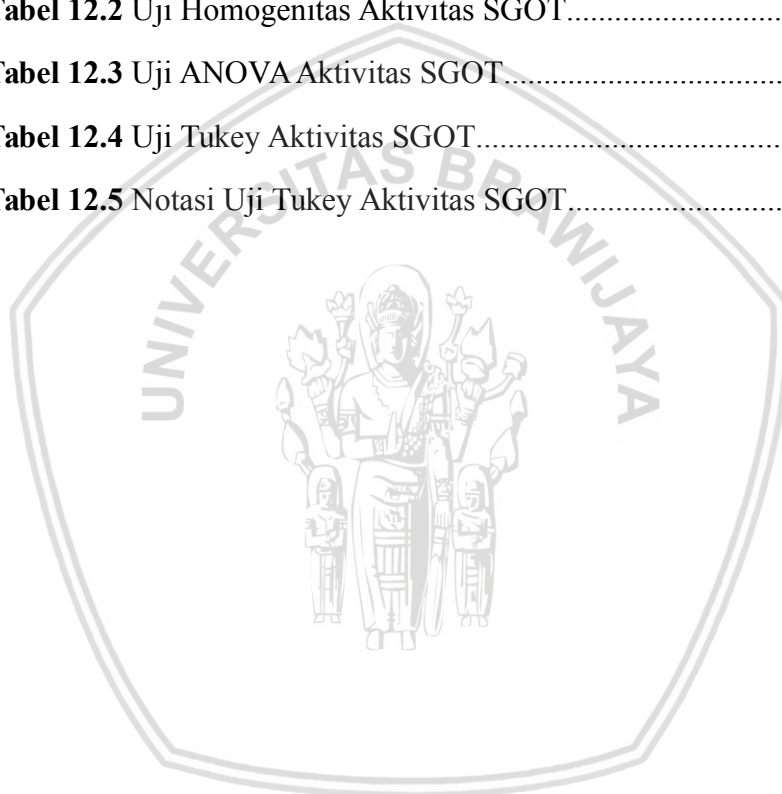
LAMPIRAN.....	46
---------------	----



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Rancangan Penelitian.....	22
Tabel 5.1. Aktivitas SGPT dalam Serum Darah Tikus Normal yang Diinduksi Diazinon dan Diterapi Madu Sumbawa.....	30
Tabel 5.2. Aktivitas SGOT dalam Serum Darah Tikus Normal yang Diinduksi Diazinon dan Diterapi Madu Sumbawa.....	35

Tabel 10.1 Uji Normalitas Aktivitas SGPT.....	57
Tabel 10.2 Uji Homogenitas Aktivitas SGPT.....	57
Tabel 10.3 Uji ANOVA Aktivitas SGPT.....	58
Tabel 10.4 Uji Tukey Aktivitas SGPT.....	58
Tabel 10.5 Notasi Uji Tukey Aktivitas SGPT.....	59
Tabel 12.1 Uji Normalitas Aktivitas SGOT.....	61
Tabel 12.2 Uji Homogenitas Aktivitas SGOT.....	61
Tabel 12.3 Uji ANOVA Aktivitas SGOT.....	62
Tabel 12.4 Uji Tukey Aktivitas SGOT.....	62
Tabel 12.5 Notasi Uji Tukey Aktivitas SGOT.....	63



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur Diazinon.....	5
Gambar 2.2. Reaksi Metabolisme Diazinon.....	9
Gambar 2.3. Reaksi SGOT dan SGPT terhadap Asam Amino.....	12



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kerangka Operasional Penelitian.....	48
Lampiran 2. Perhitungan Dosis Diazinon.....	49
Lampiran 3. Pembuatan Sediaan Madu Sumbawa.....	50
Lampiran 4. Pengambilan Sampel Darah.....	51
Lampiran 5. Pengukuran SGPT.....	51
Lampiran 6. Pengukuran SGOT.....	51
Lampiran 7. Sertifikat Laik Etik.....	53
Lampiran 8. Hasil Uji TFC Madu Sumbawa.....	54
Lampiran 9. Hasil Uji Kualitatif Madu Sumbawa.....	55
Lampiran 10. Hasil Uji Statistika Aktivitas SGPT.....	57
Lampiran 11. Perhitungan Presentasi Aktivitas SGPT.....	60
Lampiran 12. Hasil Uji Statistika Aktivitas SGOT.....	61
Lampiran 13. Perhitungan dan Aktivitas SGOT.....	64
Lampiran 14. Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	65

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

AchE	: <i>Acetylcholine Esterase</i>
SGPT	: Serum Glutamat Piruvat Transaminase
SGOT	: Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
BNJ	: Beda Nyata Jujur
EC	: Emulsifiable Concentrate
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
cm	: sentimeter
cc	: <i>cubiccentimeter</i>
mL	: mililiter
μ L	: mikroliter
mg	: miligram
kg	: kilogram
BB	: Berat badan
P1	: Perlakuan 1
P2	: Perlakuan 2
P3	: Perlakuan 3
K+	: Kontrol positif
K-	: Kontrol negatif
$^{\circ}\text{C}$: derajat celcius
α	: alfa
λ	: panjang gelombang
nm	: nano meter
O_2^-	: ion superoksida
H_2O_2	: hidrogen peroksida
OH^-	: hidroksida
NaCl	: natrium klorida
UV	: ultra violet
NH_2	: gugus amina

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Diazinon merupakan pestisida yang banyak digunakan di Indonesia dan negara lain untuk mengatasi hama. Diazinon yang semakin banyak digunakan seiring dengan peningkatan kasus keracunan pada manusia dan hewan seperti sapi, domba, bahkan anjing dan kucing akibat terkontaminasi diazinon melalui air maupun bahan makanan (Ivanovic *et al.*, 2016). Pada tahun 2013 di Iran, salah satu dampak diazinon pada lingkungan perairan mengakibatkan kontaminasi air terutama karena program pertanian intensif yang mengakibatkan sebagian besar pestisida diazinon sampai ke sumber air seperti sungai, kolam, danau dan sumber air alami dan sangat beracun bagi organisme non-target seperti ikan (Alishahi, *et al.*, 2016).

Menurut Hasibuan (2012) distribusi pestisida diazinon dinilai masih sangat bebas di Indonesia. Organofosfat bekerja sebagai racun kontak, racun perut, dan racun pernafasan. Gejala yang dapat muncul yaitu kejang otot, hipersalivasi, diare, muntah, bahkan kematian (Thanos dkk., 2016). Menurut *National Pesticide Information Center* yang dilakukan oleh Harper *et al.* (2009) diazinon cepat diabsorpsi usus halus dan diedarkan menuju hepar melalui vena porta hepatica. Diazinon mencapai hepar dan ginjal untuk kemudian dikeluarkan dari tubuh melalui eliminasi dalam bentuk urin. Organofosfat yang masuk melalui rute oral akan melewati faring, esofagus, lambung hingga ke usus halus untuk diabsorpsi dan berpotensi untuk menghambat enzim asetilkolin esterase (AChE). Diazinon

dimetabolisme menjadi molekul yang tidak stabil dan merupakan salah satu agen radikal bebas yang termasuk dalam golongan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Apabila terlalu banyak molekul radikal bebas dalam tubuh dan tidak dapat dinetralkan oleh antioksidan endogen, maka akan mengakibatkan stress oksidatif. Molekul radikal bebas metabolit diazinon untuk menyeimbangkan diri perlu berikatan dengan atom hidrogen ($H\bullet$) yang ada dalam sel, termasuk hepatosit sebagai unit terkecil sel hepar dan hal ini dapat memicu peroksidasi membran lipid membentuk ($LOOH\bullet$) yang akan mengakibatkan permeabilitas hepatosit terganggu. Kerusakan sel hepatosit dapat memicu pengeluaran Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) dan Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) (Kang *et al.*, 2008).

Atropin sulfat dapat digunakan untuk menangani efek keracunan diazinon secara akut, sedangkan untuk menangani efek keracunan diazinon secara kronik perlu diberikan pengobatan dengan bahan yang mengandung antioksidan tinggi untuk mengurangi kerusakan seluler. Salah satu bahan alternatif yang mengandung antioksidan tinggi yaitu madu Sumbawa.

Madu Sumbawa secara fisik dapat dibedakan dengan madu yang lain yaitu konsistensi yang lebih kental, berwarna coklat lebih gelap, serta terdapat sedikit busa dipermukaan. Madu Sumbawa memiliki kandungan air 17-18% sedangkan madu komersial mencapai 22%. Madu Sumbawa bermanfaat sebagai antibakteri dan antiinflamasi alami sehingga lebih aman dikonsumsi karena diperoleh langsung dari hutan, tanpa proses pemanasan yang merusak fitonutrien, serta bebas dari bahan

aditif. Madu Sumbawa dihasilkan oleh lebah *Apis dorsata sp.* dan memiliki kandungan tinggi antioksidan seperti vitamin C, polifenol, tinggi protein dan mineral alami (Malik, 2015) yang dapat berperan untuk membantu kerja antioksidan endogen dalam mengatasi radikal bebas yang akan merusak sel, salah satunya hepatosit (Hudri, 2014).

Berdasarkan tinjauan data di atas, tujuan penelitian ini difokuskan pada pengaruh madu Sumbawa terhadap aktivitas Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) dan Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) setelah diinduksi diazinon.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian Madu Sumbawa dapat berpengaruh terhadap aktivitas Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) pada tikus yang diinduksi diazinon.
2. Apakah pemberian Madu Sumbawa dapat berpengaruh terhadap aktivitas Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) pada tikus yang diinduksi diazinon.

1.3 Batasan Masalah

1. Hewan model yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar dengan umur 8-12 minggu dengan berat badan rata-rata antara

130-180 gram yang diperoleh dari Laboratorium Epidemiologi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Biosains Universitas Brawijaya Malang dengan No. KEP 957-UB.

2. Diazinon yang diberikan yaitu dosis 60 mg/kgBB per hari selama tujuh hari pemberian (Ulansari, 2017).
3. Madu Sumbawa yang digunakan merupakan madu hutan Sumbawa alami yang dihasilkan oleh lebah jenis *Apis dorsata sp.*
4. Madu Sumbawa yang diberikan sebanyak 1 mL secara per oral menggunakan sonde lambung pada hari ke-8 selama 14 hari.
5. Variabel yang diamati pada penelitian ini yaitu aktivitas Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) dan Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) tikus jantan dengan metode spektrofotometer.

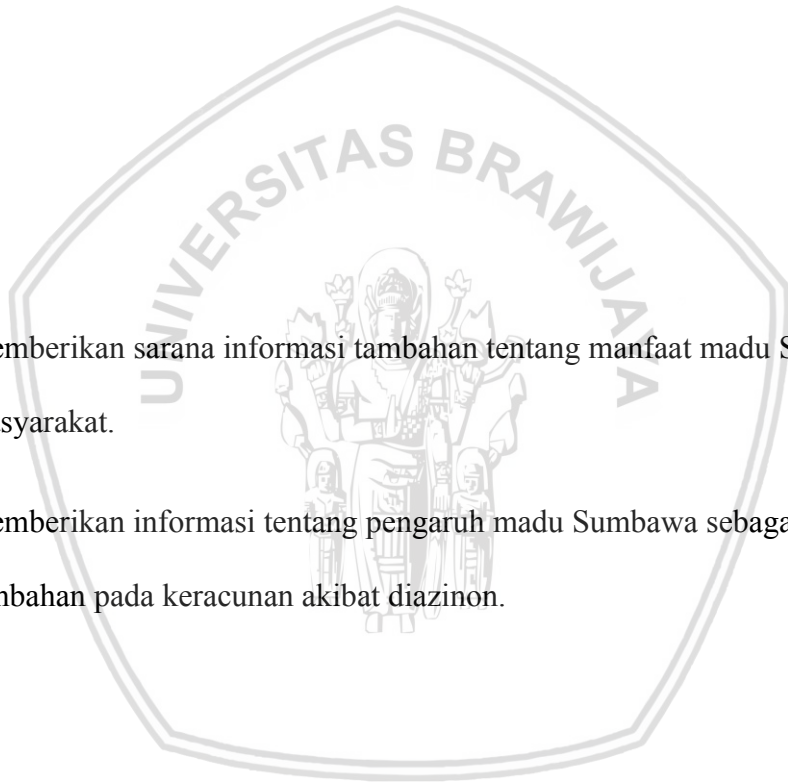
1.4 Tujuan

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian madu Sumbawa terhadap aktivitas Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) tikus yang diinduksi diazinon.

2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian madu Sumbawa terhadap aktivitas Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) tikus yang diinduksi diazinon.

1.5 Manfaat

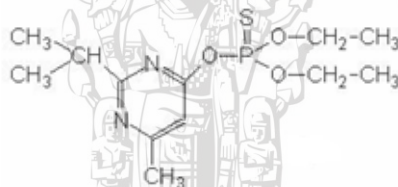
1. Memberikan sarana informasi tambahan tentang manfaat madu Sumbawa bagi masyarakat.
2. Memberikan informasi tentang pengaruh madu Sumbawa sebagai terapi tambahan pada keracunan akibat diazinon.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diazinon

Diazinon merupakan insektisida golongan organofosfat yang banyak digunakan dalam bidang pertanian untuk membasmi hama pengganggu (Himawan, 2012). Diazinon mempunyai nama struktur O,O-diethyl-O-(2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinyl) phosphorothioate dengan rumus empiris $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ (**Gambar 2.1**). Diazinon memiliki titik didih $83-84^{\circ}C$ dan berat molekul 304,36 g/mol. Diazinon merupakan salah satu organofosfat insektisida yang bersifat toksik. Diazinon dapat masuk ke dalam tubuh melalui kulit, paru-paru, dan saluran pencernaan (Djumadi, 2008).



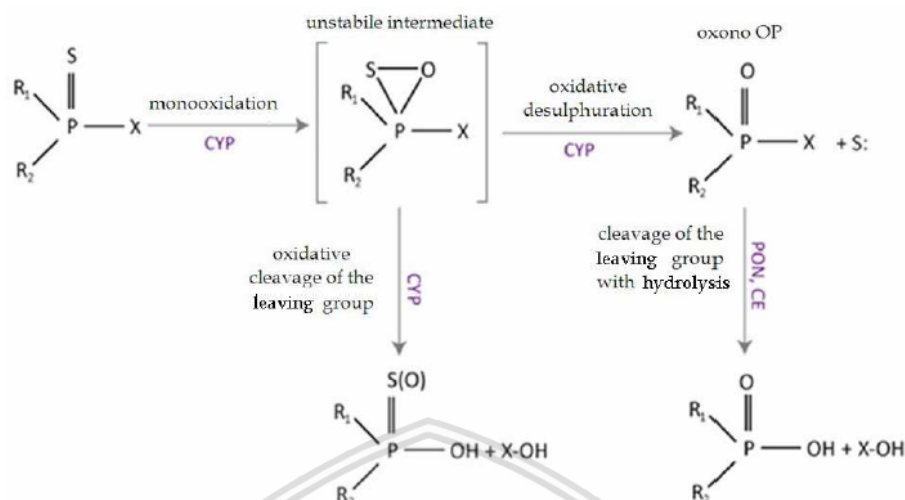
Gambar 2.1 Struktur diazinon (Raini, 2007)

Diazinon dalam bidang pertanian digunakan untuk membasmi serangga dan ektoparasit. Mekanisme kerja diazinon yaitu dengan cara menghambat enzim kolinesterase secara irreversibel. Enzim kolinesterase ini berfungsi untuk memecah asetilkolin yang merangsang saraf otot (Usman, 2013). Diazinon memberikan efek terhadap hewan berupa keracunan akut akibat terhambatnya enzim asetilkolinesterase yang berfungsi memecah neurotransmitter asetilkolin (ACh) (Yuningsih, 2010). Asetilkolin yang tidak terhidrolisis dapat menyebabkan hantaran impuls yang tertunda sehingga akan mengakibatkan salivasi berlebih, diare, kejang, kelumpuhan, dan berakhir

kematian (Wulandari, 2008). Diazinon tersebut masuk secara peroral dimulai dari mulut, faring, esofagus, lambung, usus halus hingga mencapai vena porta hepatica dan diserap untuk dimetabolisme di hepar (Edem *et al.*, 2012).

2.2. Mekanisme Toksisitas Diazinon

Diazinon termasuk dalam senyawa xenobiotik karena berupa agen yang tidak diperlukan oleh tubuh. Proses pengeluaran zat xenobiotik tersebut dimulai bahkan di usus halus dan kemudian dibawa menuju hepar. Metabolisme *organophosphate* (OP) sebagai xenobiotik terdiri dari 2 fase di hepar, menurut Aulia (2017), menyatakan bahwa metabolisme organofosfat fase I (**Gambar 2.2**) terdiri dari reaksi oksidasi yang merupakan suatu reaksi aktivasi *thiono-organofosfat* menjadi *oxono-organofosfat* dan atom sulfur dengan bantuan enzim *Cytochrome P450* (CYP) sehingga *Oxono-organofosfat* dan gugus *leaving group* yang terbentuk pasca reaksi menjadi molekul aktif yang mampu menghambat fungsi dari AChE dalam sinaps sistem syaraf. Selanjutnya yaitu reaksi hidrolisis menurut Elersek dan Filipic (2011), dimana hidrolisis terjadi setelah reaksi oksidasi berlangsung dengan bantuan enzim *paraoxonase* (PON) reaksi ini penting untuk proses detoksifikasi dalam tubuh dan membantu dalam proses pengeluaran melalui ekskresi. Sedangkan pada fase II, metabolisme berupa molekul organofosfat (OP) yang dikonjugasi dengan gugus hidrofilik dengan bantuan enzim katalis untuk dikeluarkan melalui urin.



Gambar 2.2 Reaksi metabolisme diazinon
(Sumber : Elersek and Metka, 2011)

Pemberian diazinon secara oral akan terabsorbsi dengan cepat. Menurut Wu *et al.* (1996) diazinon memiliki waktu paruh 2.5-5 jam. Diazinon dapat terdeteksi di dalam darah, jaringan adiposa, otot, hepar dan otak. Pada otot, konsentrasi tertinggi terjadi pada hari ke-12 sedangkan hepar pada hari ke-8 dan tidak terdeteksi lagi setelah 30 hari (Timchalk *et al.*, 2001).

2.3 Hepar

Hepar merupakan organ terbesar dalam tubuh yang terletak di rongga abdomen dan memiliki fungsi vital dalam aktivitas metabolisme baik makanan, obat, maupun zat xenobiotik. Secara anatomi, hepar pada tikus putih terdiri atas lobus-lobus yaitu lobus medial, lateral (kanan dan kiri), serta lobus kaudal. Lobus ini menunjukkan dasar sistem vena hepatis yang mirip dengan manusia. Pada permukaan atas hepar berbatasan dengan diafragma. Sedangkan sebelah bawah hepar berbatasan dengan abdomen dan organ-organ pencernaan (Junqueira *et al.*, 2007).

Hepar tersusun atas lobulus hepatis dengan vena sentralis yang bermuara ke vena hepatis. Dalam ruangan antara lobules terdapat kanalis hepatis (cabang-cabang arteri hepatis, vena porta hepatis serta cabang duktus koledokus yang disebut trias hepatis). Darah dari vena porta dan arteri berjalan diantara sel hepar atau hepatosit melalui sinusoid dan dialirkan ke vena sentralis. Terdapat pula saluran empedu yang membentuk kapiler empedu yang dinamai kanalikuli yang mengalir diantara hepatosit (Amiruddin, 2009).

Hepatosit merupakan sel utama yang bertanggung jawab terhadap peran sentral hepar dalam metabolisme. Di dalam hepar sel hepatosit terdapat sebanyak 60% dari total sel yang terdapat di dalam hepar. Pada struktur hepar terdapat lubang yang merupakan pembuluh darah kapiler yang disebut sinusoid, dinding sinusoid mengandung sel fagosit yang disebut sel kuppfer yang bertugas memfagositosis dan menghancurkan partikel padat bakteri dalam sel darah mati. Selain sel-sel tersebut, sel lain yang dapat ditemukan dalam hepar normal yaitu sel darah, sel epitelium, limfosit, fibroblas, dan *hepatic stellate cells* (Malarkey *et al*, 2008).

Efek sekunder dari organofosfat terjadi pada organ lain non-neuronal. Efek ini terjadi akibat mekanisme sekunder dari aktivitas organofosfat dan konsekuensi dari paparan kronis organofosfat. Beberapa enzim bekerja untuk menghambat efek dari organofosfat seperti *Carboxylesterase* (CE) dan sitokrom P450 (CYP), namun tidak berfungsi pada paparan kronis organofosfat. Atom sulfur (S) yang aktif akan meningkat selama proses desulfurasi dan mampu menghambat enzim CYP. Ketidakmampuan enzim untuk memetabolisme organofosfat mengakibatkan

organofosfat yang larut lemak akan terakumulasi di hepatosit (Elersek and Metka, 2011).

Fisiologi Hepar

Hepar merupakan organ metabolik terbesar dan penting dalam tubuh terutama bagi sistem pencernaan untuk mensekresikan empedu. Empedu yang dihasilkan hepar melalui duktus hepatikus kanan dan kiri lalu bergabung membentuk duktus hepatikus komunis. Menurut Guyton and Hall (2008) fungsi hepar antara lain :

a. Metabolisme Karbohidrat

Hepar menyimpan glikogen dalam jumlah besar, mengkonversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, glukoneogenesis, dan membentuk banyak senyawa kimia penting dari hasil metabolisme karbohidrat.

b. Metabolisme Lemak

Hepar berfungsi untuk mengoksidasi asam lemak untuk menyuplai energi bagi fungsi tubuh lain, membentuk sebagian besar kolesterol, fosfolipid dan lipoprotein, membentuk lemak dari protein dan karbohidrat.

c. Metabolisme Protein

Peran hepar dalam metabolisme protein yaitu melakukan deaminasi asam amino membentuk ureum untuk mengeluarkan amonia dari tubuh, pembentukan protein plasma dan membentuk senyawa lain dari asam amino.

d. Sebagai Detoksifikasi

Dalam melawan berbagai zat asing seperti bakteri, virus, logam, racun dan obat hepar menyimpan antioksidan dengan berat molekul rendah yang dapat merusak

kelompok oksigen reaktif (ROS) misalnya glutathion teroksidasi (GSH), vitamin C, vitamin E, superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase dan katalase.

e. Fungsi lain

Hepar juga berperan sebagai tempat penyimpanan vitamin, besi dalam bentuk feritin, zat untuk koagulasi darah dalam jumlah banyak dan mengekskresikan obat maupun hormon.

2.4 Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) dan Serum Glutamat Oksaloasetat Transferas (SGOT)

Enzim transaminase meliputi serum glutamat piruvat transferas (SGPT) atau enzim alanin transaminase (ALT) dan serum glutamat oksaloasetat transferase (SGOT) aspartate transaminase (AST). Pengukuran aktivitas SGPT dan SGOT serum dapat menunjukkan adanya kelainan sel hati tertentu, meskipun diperlukan uji pendukung lainnya. Menurut Rosida (2016) enzim ALT/SGPT terdapat pada sel hati, jantung, otot dan ginjal. Porsi terbesar ditemukan pada sel hati yang terletak di dalam sitoplasma sel hati atau hepatosit. Sedangkan enzim AST/SGOT terdapat di dalam sel jantung, hati, otot rangka, ginjal, otak, pankreas, limpa dan paru. Aktivitas tertinggi terdapat didalam sel jantung. Tingginya aktivitas AST/SGOT berhubungan langsung dengan jumlah kerusakan sel. Kerusakan sel akan diikuti peningkatan aktivitas AST/SGOT dalam waktu 12 jam dan tetap bertahan dalam darah selama 5 hari (Hall and Jhony, 2012).

Menurut Akbar (2009) pemeriksaan enzim dibagi dalam beberapa bagian :

- a. Enzim yang berhubungan dengan kerusakan sel yaitu SGOT, SGPT, glutamat dehidrogenase (GLDH) dan laktat dehidrogenase (LDH).

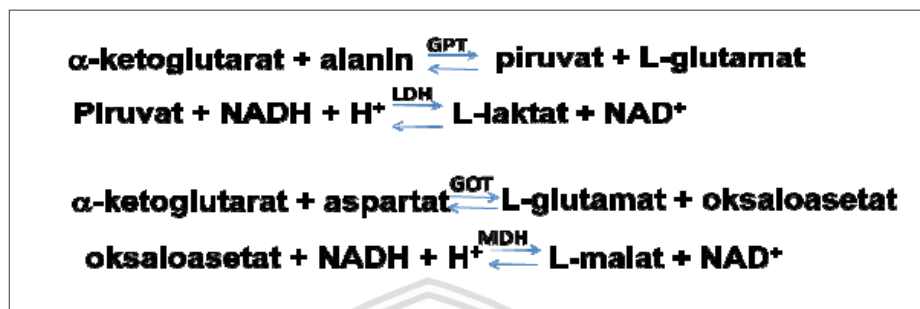
- b. Enzim sebagai penanda atau *biomarker* kolestasis hepar yaitu gamma-glutamyl transferase (GGT) dan alkalin fosfatase (ALP).
- c. Enzim yang berhubungan dengan kapasitas sintesis hati yaitu *cholinesterase*.

Peningkatan enzim SGPT atau SGOT disebabkan perubahan permeabilitas atau kerusakan dinding sel hati sehingga digunakan sebagai penanda gangguan integritas sel hati (hepatoseluler). Menurut Grant (2000) normalnya SGPT atau ALT adalah pada rentang 35 – 80 IU/ L sedangkan aktivitas SGOT atau AST normalnya pada rentang 45.7-80.8 IU/L. Peningkatan enzim ALT dan AST sampai 300 U/L tidak spesifik untuk kelainan hati saja, tetapi jika didapatkan peningkatan lebih dari 1000 U/L dapat dijumpai pada penyakit hati akibat virus, iskemik hati yang disebabkan hipotensi lama atau gagal jantung akut, dan kerusakan hati akibat obat atau zat toksin (Lamsal, 2007).

Pada peradangan dan kerusakan hepatoseluler awal, menurut Suryaatmadja (2009) akan terjadi kebocoran membran sel sehingga isi sitoplasma keluar menyebabkan SGPT meningkat lebih tinggi dibandingkan SGOT dengan rasio SGOT/SGPT < 0,8 yang menandakan kerusakan ringan. Pada peradangan dan kerusakan kronis atau berat maka kerusakan sel hati mencapai mitokondria menyebabkan peningkatan aktivitas SGOT/AST lebih tinggi dibandingkan SGPT sehingga rasio SGOT/SGPT > 0,8 yang menandakan kerusakan hati berat atau kronis.

Aktivitas SGPT dan SGOT dalam serum menurut Kee (2007) menunjukkan hasil yang relatif karena enzim tersebut masuk dan keluar sirkulasi. Peran SGPT dan SGOT yaitu membantu proses metabolisme asam amino dan mengkatalis reaksi yang

sama yaitu perpindahan gugus NH_2 dari asam amino ke gugus alfa -keto (**Gambar 2.3**), sehingga terbentuk asam alfa-keto dan asam amino yang baru.



Gambar 2.3. Reaksi SGOT dan SGPT terhadap asam amino (Schiff *et al.*, 2011)

2.5 Radikal Bebas

Radikal bebas dapat ditemukan dalam tubuh yang sebagian besar termasuk kelompok *reactive oxygen species* (ROS) dan juga *reactive nitrogen species* (RNS). Beberapa contoh ROS dalam tubuh yaitu O_2^- , H_2O_2 dan OH^- . Jumlah radikal bebas sendiri berpengaruh terhadap kerja antioksidan enzimatis *superoxide dismutase* (SOD) dan non enzimatis untuk mendetoksifikasi ROS dan RNS serta meminimalisir kerusakan pada biomolekul endogen berbentuk enzim seperti SOD, katalase, glutathion peroksidase dan glutathion reduktase. Secara normal radikal bebas akan dinetralisir oleh antioksidan endogen, namun apabila jumlah radikal bebas meningkat tajam hingga antioksidan endogen tidak mampu menetralkan, maka kondisi patologis di hepar dapat terjadi (Wati *et al.*, 2013).

Ketidakseimbangan antara produksi ROS dan kapasitas antioksidan menyebabkan keadaan stres oksidatif yang berkontribusi pada patogenesis sejumlah penyakit dengan menimbulkan kerusakan lemak, protein, atau bahkan materi genetik. Produksi ROS dan RNS yang tinggi menginduksi peroksidasi lemak, yaitu suatu

proses berantai yang menyebabkan asam lemak tidak jenuh, terutama terdapat di membran sel sehingga merusak permeabilitas hepatosit dan memicu pengeluaran enzim SGPT dan SGOT sebagai indikator adanya kerusakan hepar (Lamsal *et al.*, 2007).

2.6 Madu Sumbawa

Madu merupakan produk alami berupa cairan kental dan manis yang banyak digunakan sebagai sumber makanan di seluruh dunia dan diaplikasikan pada dunia kesehatan. Madu dihasilkan oleh lebah madu dan berasal dari nektar bunga maupun sekresi tanaman kemudian lebah mengolahnya dengan zat khusus dan selanjutnya disimpan dalam sel-sel atau sarang lebah hingga matang (Crane, 2010).

Madu merupakan cairan dengan viskositas tinggi karena mengandung berbagai molekul, termasuk fruktosa dan glukosa 80-85%, mengandung air sebanyak 15-17%, protein dan asam amino sebesar 0.1-0.4% dan bahan lainnya (Rao *et al.*, 2016). Selain itu, madu juga tinggi karbohidrat, enzim, vitamin, mineral serta kaya akan antioksidan seperti tokoferol, vitamin C, flavonoid seperti apigenin, chrysin, galangin, hesperetin, kaempferol, dan quercetin. Madu Sumbawa sangat baik dikonsumsi karena diperoleh langsung dari hutan, tanpa proses pemanasan yang dapat mengurangi kadar nutrisi alaminya serta dalam madu hutan Sumbawa masih terkandung propolis yang tinggi akan asam amino dan flavonoid (Fessenden, 2011). Setiap jenis madu diperoleh dari sumber nektar yang berbeda dan setiap jenis madu memiliki terutama madu-madu khas dari setiap daerah biasanya berbeda pada rasa manis dan juga kadar airnya (Patricia *et al.*, 2015).

Sumbawa merupakan daerah di Indonesia yang memproduksi madu terbaik. Madu Sumbawa terkenal karena khasiatnya serta dihasilkan oleh lebah-lebah liar yang hanya ada di wilayah Sumbawa dengan teknik lebah yang tidak ditenakkan melainkan langsung diambil di hutan-hutan wilayah Sumbawa. Sumbawa juga memiliki letak geografis yang kering dan rendah, sehingga aktivitas air dalam madu Sumbawa rendah (Zulhawa, 2010). Selain itu, madu Sumbawa yang dihasilkan oleh lebah jenis *Apis dorsata* terkenal akan rasa yang khas akibat lebahnya yang memperoleh makanan berupa bidara atau *Ziziphus mauritiana*. Bidara merupakan tumbuhan sumber pakan lebah yang dilaporkan memiliki kandungan flavonoid tinggi (Malik *et al.*, 2015) sehingga memiliki aktivitas antikanker, antiinflamasi, antifungi, dan antioksidan (Haeria, 2016).

a. Vitamin C

Antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai peroksidasi lipid dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Antioksidan yang dikenal ada 2, yaitu berupa enzim atau golongan antioksidan endogen dan ada yang berupa mikronutrien. Enzim antioksidan dibentuk dalam tubuh, yaitu super oksida dismutase (SOD), glutathione peroksidase, katalase, dan glutathione reduktase. Sedangkan antioksidan yang berupa mikronutrien dikenal tiga yang utama, yaitu beta-karoten, vitamin C dan vitamin E (Iswari, 2009).

Vitamin C juga dapat menyumbangkan elektron ke dalam reaksi biokimia intraseluler dan ekstraseluler. Vitamin C adalah 6 atom karbon lakton yang disintesis dari glukosa yang terdapat dalam hepar. Bentuk utama dari vitamin C yang dinamakan adalah *L-ascorbic* dan *dehydroascorbic acid*. Vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif di dalam sel hepatosit bahkan netrofil, monosit, protein serta dapat bereaksi dengan besi-ferritin. Di luar sel, Vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif, mencegah *Low Density Lipoprotein* (LDL) teroksidasi, mentransfer elektron ke dalam tokoferol teroksidasi dan mengabsorpsi logam dalam saluran cerna (Adi *et al.* 2009).

Berperan sebagai antioksidan, vitamin C dapat langsung bereaksi dengan anion superoksida, radikal hidroksil, oksigen singlet dan lipid peroksida. Sebagai reduktor menurut Berger (2009) vitamin C akan mendonorkan satu elektron membentuk semidehidroaskorbat yang tidak bersifat reaktif dan selanjutnya mengalami reaksi disproporsionasi membentuk dehidroaskorbat yang bersifat tidak stabil. Dehidroaskorbat akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat.

b. Polifenol

Senyawa fenol merupakan suatu senyawa yang mengandung gugus hidroksil (-OH) yang terikat langsung pada gugus cincin hidrokarbon aromatik. Klasifikasi senyawa fenol yang terkandung dalam madu yaitu fenol sederhana, benzoquinone, asam fenolat, asetofenon, naftokuinon, xanton, bioflavonoid kumarin, stilben, turunan tirosin, asam hidroksi sinamat, flavonoid, lignan, dan tanin (Dhianawaty, 2013).

Senyawa fenol alami yang bersifat antioksidan dapat diklasifikasikan dalam 2 kelompok, yaitu kelompok lipofilik dan hidrofilik (di antaranya senyawa fenol).

Aktivitas antioksidan dari senyawa fenol terbentuk karena kemampuan senyawa fenol membentuk ion fenoksida yang dapat memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas (Saxena, 2013). Gambaran pada umumnya yaitu, antioksidan senyawa fenol (PhH) dapat bereaksi dengan radikal bebas (ROO•) membentuk ROOH dan sebuah senyawa fenol radikal (Ph•) yang relatif tidak reaktif. Selanjutnya, senyawa fenol radikal (Ph•) dapat bereaksi kembali dengan radikal bebas (ROO•) membentuk senyawa yang bersifat tidak radikal (Dhianawaty, 2013).

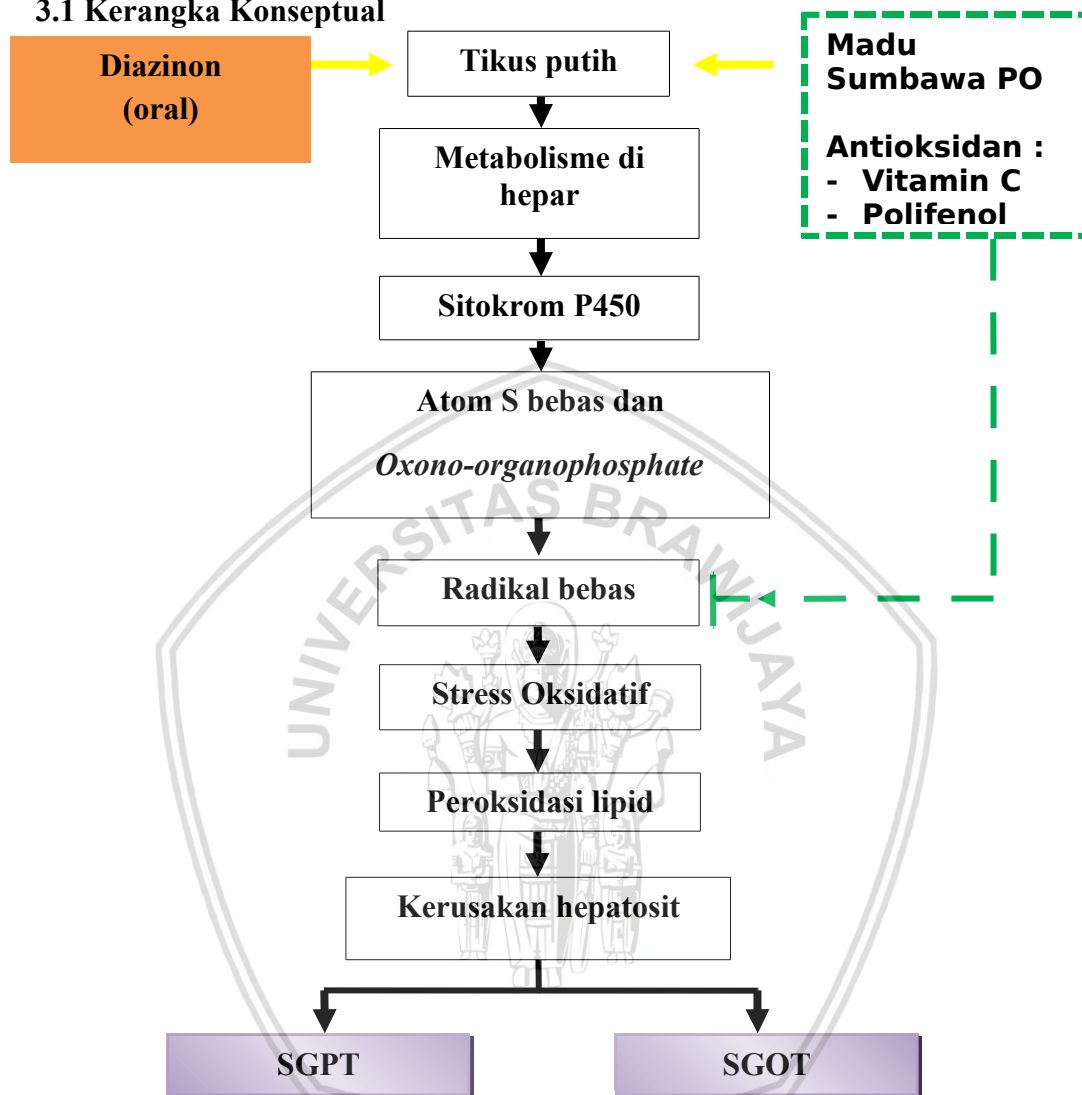
2.7 Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus termasuk hewan mamalia, sehingga untuk hewan coba, hasil yang didapat pada tikus tidak akan jauh berbeda dengan mamalia lain. Tikus memiliki lama hidup 2-3 tahun. Berat tikus dewasa 300-400 g untuk jantan dan 250-300 g untuk tikus betina dewasa. Tikus putih memiliki kelebihan dibanding tikus liar yaitu mudah dalam perawatannya, cepat dewasa dan lebih cepat untuk berkembang biak. Selain itu, tikus putih memiliki kemampuan hipersensitivitas yang lama dan sel-sel antibodi lengkap seperti sitokin, *growth factor*, dan *cell surface marker* dan cocok digunakan dalam penelitian (Maula, 2014). Menurut Fischer de Waldheim (1803) klasifikasi dari tikus putih sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Keterangan :

- ↓ : patomekanisme ↓ : penurunan [] : variabel bebas
 ↑ : peningkatan - - : terapi [] : variabel tergantung
 → : rute pemberian

Pemberian diazinon yang diinduksikan secara per oral akan diserap oleh intestin dan dimetabolisme dalam hepar. Metabolisme diazinon dalam dosis rendah dapat terjadi dalam intestin, sedangkan diazinon dengan dosis tinggi menyebabkan metabolisme dalam intestinal menjadi jenuh, sehingga besar kemungkinan diazinon lolos ke dalam vena porta. Diazinon bersifat lipofilik dan dapat berikatan dengan protein plasma sehingga dapat terdistribusikan ke hepar. Metabolisme diazinon terdiri dari fase I dan fase II.

Metabolisme organofosfat fase I terdiri dari reaksi oksidasi yang merupakan suatu reaksi aktivasi *thiono-organofosfat* dengan bantuan enzim *Cytochrome P450* (CYP) menjadi *oxono-organofosfat* dan atom sulfur (S:) serta gugus *leaving group* yang akan menghambat fungsi dari AchE. Gugus *oxono-organofosfat* menjadi molekul aktif dan menjadi radikal bebas yang dapat memicu peroksidasi lipid dengan berikatan pada membran lipid bilayer. Reaksi hidrolisis termasuk dalam metabolisme fase I, dimana hidrolisis berlangsung dengan bantuan enzim *paraoxonase* (PON) reaksi ini penting untuk proses detoksifikasi. Fase II metabolisme diazinon merupakan proses perubahan struktur diazinon menjadi molekul hidrofilik seperti asam glukoronat, sulfat, glisin, dan asam glutamat dengan bantuan enzim agar mudah diekskresikan.

Radikal bebas berupa molekul *oxono-OP* yang tidak stabil terakumulasi dalam tubuh terutama di hepar. Kondisi ketidakseimbangan antara antioksidan dengan molekul radikal bebas disebut dengan kondisi stress oksidatif. *Oxono-OP* sebagai

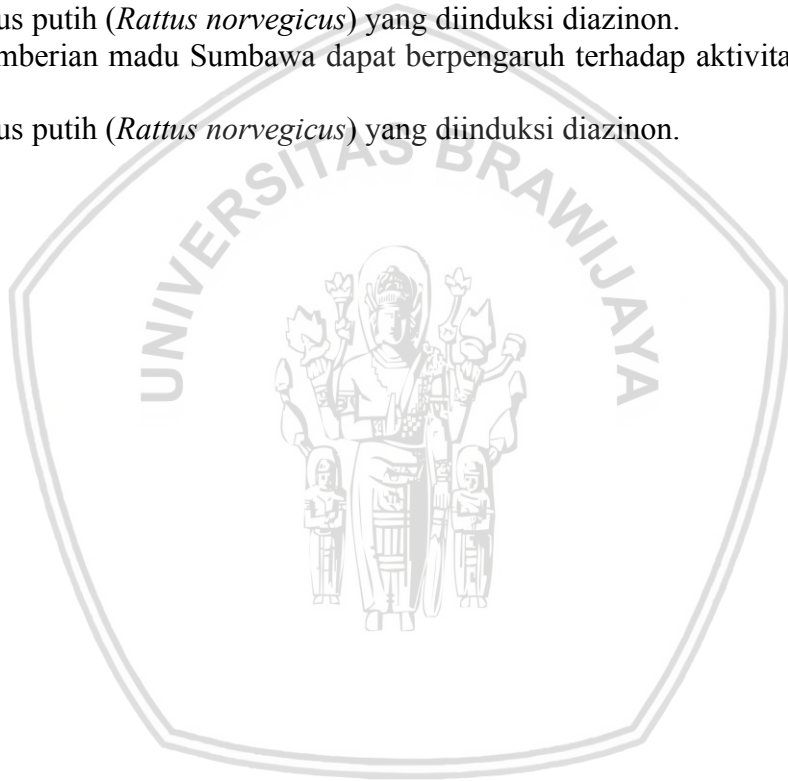
radikal bebas akan menyerang membran lipid hepatosit untuk memperoleh atom $H\bullet$ sebagai penyeimbang, apabila molekul radikal bebas banyak terakumulasi maka semakin banyak pula sel-sel hepatosit yang kehilangan atom $H\bullet$ dan kondisi ini disebut sebagai peroksidasi lipid. Apabila peroksidasi lipid terus berlangsung, maka membrane sel hepatosit akan terganggu permeabilitasnya dan memicu keluarnya enzim serum glutamat piruvat transferase (SGPT) atau enzim alanin transaminase (ALT) dan serum glutamat oksaloasetat transferase (SGOT) aspartate transaminase (AST) dari dalam sitoplasma. Oleh sebab itu, apabila enzim SGPT dan SGOT meningkat dalam serum darah maka dapat dijadikan sebagai *marker* adanya kerusakan hepar. Pemberian madu Sumbawa secara peroral akan diabsorpsi di lambung dan intestin. Proses metabolisme madu terjadi di hepar untuk mengubah fruktosanya menjadi glukosa dan hasil metabolisme disimpan di hepar.

Aktivitas radikal bebas yang tinggi dapat ditekan oleh antioksidan yang terkandung dalam madu Sumbawa seperti vitamin C dan polifenol. Kinerja vitamin C dan polifenol dalam mengatasi radikal bebas tersebut yaitu dengan cara mendonorkan elektronnya untuk menyeimbangkan kembali molekul radikal bebas (*oxono-OP*) menjadi tidak reaktif lagi. Dengan kondisi demikian, maka produksi radikal bebas dapat ditekan untuk mengurangi proses peroksidasi lipid lebih lanjut sehingga mencegah kerusakan dalam hepar dan akan berangsur-angsur menurunkan aktivitas SGPT dan SGOT dalam darah.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berikut :

1. Pemberian madu Sumbawa dapat berpengaruh terhadap aktivitas SGPT pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi diazinon.
2. Pemberian madu Sumbawa dapat berpengaruh terhadap aktivitas SGOT pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi diazinon.



BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Mei 2018 yang bertempat di Laboratorium Epidemiologi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang. Pembacaan aktivitas SGPT dan SGOT di Laboratorium Patologi Klinik dengan metode spektrofotometri dan sentrifus dilakukan di Laboratorium Parasitologi Klinis Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

4.2 Bahan dan Alat Penelitian

4.2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan berat 130-180 gram, diazinon 600 EC oleh PT. Petrokimia Kayaku, ketamin HCl, *aquades*, pakan A2 Comfeed dan jagung. Bahan yang digunakan untuk pengujian aktivitas SGPT dan SGOT yaitu reagen kit SGOT (R1 : Tris buffer 110 mmol/L; L-aspartat 320 mmol/L; MDH 800 U/L; sodium azida dan R2 : 2-oxaloglutarat 65 mmol/L; NADH 1 mmol/L; dan sodium azida). Reagen SGPT (R1 : Tris buffer 140 mmol/L; L-alanint 7000 mmol/L; LDH 2300 U/L; sodium azida dan R2 : 2-oxaloglutarat 85 mmol/L; NADH 1 mmol/L; dan sodium azida).

4.2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam pemeliharaan hewan coba berupa kandang tikus, botol minum, tempat pakan tikus dan lampu. Peralatan lainnya yaitu sonde, spuit 1 cc, mikrohematokrit, spektrofotometer UV, tabung venoject merah, serta *coolbox* untuk membawa sampel serum, gelas ukur, tabung reaksi, lemari

pendingin, gelas ukur, timbangan digital, tabung *ependorf*, mikrotube, gunting bedah, erlenmeyer, incubator, penangas air, kertas saring, sentrifus, *mikroplate*, *yellow tip*, *blue tip* dan kertas label.

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan desain *post test only control grub* Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar sebagai hewan coba dengan berat badan 130-180 gram. Hewan coba diaklimatisasi selama 7 hari, ditempatkan di Laboratorium Epidemiologi Universitas Brawijaya Malang. Adapun besar sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok uji, yang masing-masing kelompok uji terdiri dari 4 ekor tikus putih. Perhitungan besar sampel dihitung dengan rumus Federer (Kusriningrum, 2010) sebagai berikut :

$$P(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

P = jumlah perlakuan

n = jumlah pengulangan

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka perlakuan dibagi menjadi 5 macam diperlukan jumlah minimal 4 kali pengulangan dalam setiap kelompok sehingga total tikus yang diperlukan adalah 20 ekor. Perlakuan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu, K-, K+, P1, P2, dan P3.

Kelompok K- merupakan kelompok kontrol sehat yang diberi minum *ad libitum* dan pakan basal. Kelompok K+ merupakan kelompok kontrol yang diinduksi diazinon sebanyak 60 mg/kgBB diberikan secara per oral. Kelompok P1 merupakan kelompok yang diinduksi diazinon sebanyak 60 mg/kgbb dan diterapi dengan madu Sumbawa sesuai penelitian Suprijono *et al.* (2011) dengan konsentrasi 25% diberikan secara per oral. Kelompok P2 merupakan kelompok yang diinduksi diazinon sebanyak 60 mg/kgbb dan diterapi dengan madu sumbawa sebanyak 1 ml dengan konsentrasi sebanyak 50% yang keduanya diberikan secara per oral. Kelompok P3 merupakan kelompok yang diinduksi diazinon sebanyak 60 mg/kgbb dan diterapi dengan madu Sumbawa sebanyak 1 ml dengan konsentrasi sebanyak 75% yang keduanya diberikan secara per oral. Berikut diperinci pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rancangan penelitian.

Kelompok Perlakuan	Perlakuan
Tikus Normal	Tanpa diberi diazinon dan tanpa terapi
Tikus Positif	Diazinon 60 mg/kg BB
Tikus perlakuan 1 (P1)	Diazinon 60 mg/kg BB, madu Sumbawa 1 mL [25%]
Tikus perlakuan 2 (P2)	Diazinon 60 mg/kg BB, madu Sumbawa 1 mL [50%]
Tikus perlakuan 3 (P3)	Diazinon 60 mg/kg BB, madu Sumbawa 1 mL [75%]

4.4 Tahapan Penelitian

1. Persiapan hewan coba.
2. Pemberian diazinon pada tikus.
3. Terapi madu Sumbawa pada masing masing perlakuan.
4. Pengambilan sampel darah intrakardial
5. Pengukuran aktivitas SGPT dan SGOT
6. Analisis data

4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dari penelitian ini meliputi:

Variabel bebas : dosis induksi diazinon dan dosis induksi terapi madu Sumbawa.

Variabel tergantung : aktivitas SGPT dan SGOT

Variabel kontrol : Tikus (strain, kelamin, berat badan dan pakan)

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) sehat dengan berat badan 130-180 gram. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok dengan jumlah ulangan minimal 4 kali setiap kelompok perlakuan. Tikus diberikan pakan basal pada semua tikus diaklimatsasi selama 7 hari.

Kandang tikus dibuat menggunakan bak plastik dengan ukuran panjang x lebar x tinggi = 30x45x20 cm yang dilengkapi dengan sekat tiap ekor tikus, botol minum dan serbuk gergaji sebagai alas. Kandang tikus diberi tutup kayu dan

kawat strimin. Kandang-kandang bak plastik diletakkan di meja laboratorium Epidemiologi bersama dengan kandang pemeliharaan tikus lainnya.

4.6.2 Induksi Diazinon

Dosis diazinon 600 EC yang diberikan pada tikus sebanyak 60 mg/kgBB. Induksi dilakukan 1x setiap hari terbukti dapat menyebabkan kerusakan pada hepar (Aulia, 2017). Diazinon 1 mL diencerkan dalam akuades sebanyak 100 mL dengan konsentrasi 6 mg/mL. Diberikan secara peroral menggunakan sonde sebanyak 1 mL setiap hari pada tikus K+, P1, P2, dan P3. Pemberian diazinon dilakukan selama 7 hari dimulai pada hari ke-8 hingga ke-14.

4.6.3 Terapi Madu Sumbawa

a. Terapi madu Sumbawa diberikan per oral pada selama 14 hari sebanyak 1 kali sehari 1 mL dengan konsentrasi 25% yang dilarutkan dalam akuades sebagai pengencer dan diberikan pada kelompok P1.

b. Terapi madu Sumbawa diberikan per oral pada selama 14 hari sebanyak 1 kali sehari 1 mL dengan konsentrasi 50% yang dilarutkan dalam akuades sebagai pengencer dan diberikan pada kelompok P2

c. Terapi madu Sumbawa diberikan per oral pada selama 14 hari sebanyak 1 kali sehari 1 mL dengan konsentrasi 75%. yang dilarutkan dalam akuades sebagai pengencer dan diberikan pada kelompok P3.

4.6.4 Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-28 melalui vena orbitalis dengan kondisi hewan teranastesi menggunakan Ketamin HCl. Darah yang keluar ditampung dalam tabung venoject merah tanpa anti-koagulan dan

ditutup rapat dengan karet penutup. Kemudian darah didiamkan selama 30 menit dalam suhu ruang dengan posisi miring lalu disentrifugasi dengan kecepatan 25.000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serum.

4.6.5 Pengukuran Aktivitas SGPT dan SGOT

Prinsip penghitungan aktivitas SGPT dan SGOT menggunakan metode kinetik yang disesuaikan dengan *International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC) tanpa menggunakan piroksidal-5 fosfat dengan alat ABX Pentra C200. Pada penghitungan aktivitas SGPT sampel serum yang digunakan sebanyak 10 μ L yang dicampur dengan reagen 1 yang berisi Tris buffer 140 mmol/L; L-alanin 7000 mmol/L; LDH 2300 U/L; sodium azida dan reagen 2 berisi Tris buffer 140 mmol/L; L-alanin 7000 mmol/L; LDH 2300 U/L serta sodium azida. Serum dan reagen direaksikan kemudian divortex dan diinkubasi selama 1 menit kemudian dimasukkan kedalam alat ABX Pentra C200 serta diukur absorbansinya pada $\lambda=340$ nm. Pengukuran dilakukan empat kali dengan interval 30 detik.

Pengukuran aktivitas enzim SGOT menggunakan reagen 1 berisi Tris buffer 110 mmol/L; L-aspartat 320 mmol/L; MDH 800 U/L; sodium azida dan reagen 2 berisi 2-oxaloglutarat 65 mmol/L; NADH 1 mmol/L; dan sodium azida. Serum dan reagen direaksikan kemudian divortex dan diinkubasi selama 1 menit kemudian dimasukkan kedalam alat ABX Pentra C200 serta diukur absorbansinya pada $\lambda=340$ nm. Pengukuran dilakukan empat kali dengan interval 30 detik. Prinsip pengukuran aktivitas SGPT dan SGOT yaitu banyaknya NADH yang diubah menjadi NAD^+ pada satuan waktu yang dinyatakan dalam satuan unit/liter (U/L) dalam satuan liter serum.

4.6.8 Analisa Data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah aktivitas SGPT dan SGOT dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Analisa data yang digunakan berupa data kuantitatif untuk mengetahui aktivitas SGPT dan SGOT menggunakan uji statistic *One Way Analysis of Variant* (ANOVA) untuk mengetahui perbedaan perlakuan serta dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) $\alpha = 5\%$, untuk membandingkan rata-rata setiap perlakuan.



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Aktivitas *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) Dalam Serum Darah Tikus yang Diinduksi Diazinon dan Diberi Madu Sumbawa

Diazinon merupakan pestisida golongan organofosfat yang banyak digunakan untuk mengatasi hama. Kinerja utama diazinon yaitu menghambat asetil kolin esterase (AChE) dalam sinaps syaraf sehingga penghantaran impuls syaraf terganggu (Costa, 2006). Diazinon tidak hanya membunuh hama, melainkan dapat mengancam makhluk hidup lain melalui kontaminasi di lingkungan terutama hasil tanaman sebagai sumber makanan serta air yang dapat mengancam hewan lainnya bahkan manusia. Gejala keracunan pada tikus yang timbul setelah paparan sub kronik diazinon menurut Ivanovic *et. al.* (2016) yaitu lakrimasi dan salivasi berlebih, kesulitan bernafas, tremor, perubahan perilaku tikus, bahkan diare. Hal ini sesuai dengan pengamatan selama penelitian dan didapati tikus menunjukkan gejala pasca 2-3 jam setelah induksi, tikus juga mengalami tremor serta diare yang ditandai perubahan warna serta tekstur feses tikus yang semakin lembek, perubahan perilaku suka menggigit jari dan kaki, serta munculnya sianosis pada hari ke-2 dan ke-3 pasca induksi serta menghilang pada hari ke-4. Hasil ini sesuai dengan penelitian Hayes (2010) bahwa tikus yang mengalami intoksikasi diazinon secara akut menunjukkan adanya sianosis pada beberapa hari yang kemudian menghilang.

Pemeriksaan fungsi hepar secara umum dibagi menjadi 3, yaitu penilaian fungsi hepar, mengukur aktivitas enzim, dan mencari etiologi penyakit. Pada penilaian fungsi hepar, diperiksa kinerja sintesis hati, eksresi, dan detoksifikasi

bahan atau zat yang tidak diperlukan tubuh misalkan golongan xenobiotik seperti diazinon. *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) adalah enzim yang terdapat pada sel hepar, jantung, otot dan ginjal dengan aktivitas terbesar ditemukan pada hepar yang diproduksi dalam mitokondria dan sitoplasma. SGPT digunakan sebagai *biomarker* kerusakan hati yang lebih spesifik (Rosida, 2016). Hasil pengukuran aktivitas serum SGPT dalam serum darah tikus yang diinduksi diazinon dan diberi terapi madu Sumbawa dinyatakan dalam **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Aktivitas SGPT dalam Serum Darah Tikus Normal yang Diinduksi Diazinon, dan Terapi Madu Sumbawa

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Aktivitas SGPT (U/L)	Aktivitas SGPT	
		Presentase Kenaikan terhadap K- (%)	Presentasi Penurunan terhadap K+ (%)
Kontrol negatif (K-)	41 ± 1.82 ^a	-	-
Kontrol positif (K+)	121 ± 3.91 ^e	195%	-
Perlakuan 1 (P1)	95 ± 1.83 ^d	-	21.48%
Perlakuan 2 (P2)	85.50 ± 2.18 ^c	-	29.33%
Perlakuan 3 (P3)	76.75 ± 2.06 ^b	-	36.61%

Keterangan : notasi a, b, c, d, dan e menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil analisa stastistika ANOVA menunjukkan bahwa terapi menggunakan madu Sumbawa terhadap tikus yang diinduksi diazinon memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0.05$) terhadap aktivitas *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) antar kelompok perlakuan (**Tabel 5.1**). Analisa selanjutnya menggunakan uji *Tukey* didapatkan hasil bahwa kelompok terapi P1, P2, dan P3 memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) (**lampiran 9.5**), hal ini menunjukkan bahwa terapi madu Sumbawa dapat menurunkan aktivitas SGPT. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa ketiga kelompok perlakuan dengan konsentrasi berbeda nyata terhadap kelompok kontrol negatif (K-). Pada tikus kelompok kontrol

negatif (K-) didapatkan hasil rata-rata aktivitas SGPT yaitu 41 U/L dengan rentang normal 35-80 U/L (Grant, 2000). Pada tikus K- merupakan tikus yang tidak diberikan perlakuan khusus dan diberikan pakan dan minum normal. Dalam kondisi normal, aktivitas SGPT dan SGOT secara fisiologis tetap terukur. Menurut Vallabhajosula (2009) tubuh menjaga kondisi homeostasisnya dengan apoptosis sel dan juga adaptasi fisiologis sel, sehingga sel-sel yang tua maupun sel yang tidak mampu beradaptasi dengan respon tubuh akan mengalami kerusakan yang mengakibatkan SGPT dan SGOT terlepas dalam darah serta dijadikan biomarker pada kerusakan hepatoseluler (Yang xi *et al.*, 2014). Nilai aktivitas SGPT secara normal pada kelompok K- dan studi literatur dijadikan sebagai acuan keberhasilan terapi kuratif pemberian madu Sumbawa terhadap tikus yang diinduksi diazinon.

Pada kelompok kontrol positif (K+) menunjukkan hasil aktivitas SGPT yang berbeda nyata ($p < 0.05$) terhadap kelompok K-, P1, P2, dan P3. Peningkatan aktivitas SGPT kelompok kontrol positif (K+) merupakan tertinggi mencapai 3x lipat dari kelompok kontrol negatif (K-) hal ini terjadi karena tingginya kerusakan hepatoseluler. Pada pemberian diazinon, kerusakan sel terjadi karena adanya peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) berupa banyaknya gugus radikal *oxono-organophosphate*, atom sulfur (S^\bullet) bebas, dan gugus *leaving group* yang dapat mengganggu stabilitas membran sel, menurut Malarkey *et al.* (2008) ketidakstabilan membran sel tersebut memicu terjadinya peroksidasi lipid dengan cara mengambil elektronnya dan mengakibatkan kerusakan membrane sel dan SGPT terlepas di dalam darah. Kerusakan seluler yang meningkat tajam akan menghasilkan kenaikan aktivitas SGPT yang tajam pula dalam darah (Edem, *et al.*, 2012).

Pada kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberikan terapi madu Sumbawa dengan konsentrasi 25% menunjukkan hasil yang berbeda signifikan terhadap kelompok K+. Pada tikus kelompok P1 terjadi penurunan aktivitas SGPT sebesar 21.48% dengan rata-rata aktivitas SGPT sebesar 95 ± 1.83 U/L, kelompok perlakuan 2 (P2) dengan terapi madu Sumbawa 50% terjadi penurunan sebesar 29.33% dengan rata-rata aktivitas SGPT sebesar 85.5 ± 2.18 U/L, dan pada kelompok perlakuan 3 (P3) yang diberikan terapi madu Sumbawa konsentrasi 75% menunjukkan penurunan sebesar 36.61% terhadap tikus kontrol negatif dan rata-rata aktivitas SGPT sebesar 76.75 ± 2.06 U/L. Kelompok P1, P2, dan P3 menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap K- yang berarti ketiga kelompok perlakuan mampu menurunkan aktivitas SGPT namun tidak menunjukkan nilai aktivitas yang sama terhadap K-.

Hasil perbandingan dari berbagai kelompok diatas menunjukkan bahwa pada kelompok P3 dengan pemberian madu Sumbawa 75% merupakan konsentrasi terbaik, dengan nilai penurunan sebesar 36.61% dan nilai SGPT sebesar 76.75 ± 2.06 U/L. Pada kelompok P3 tersebut menunjukkan nilai SGPT dalam rentang normal pada tikus, walupun belum menyamai nilai aktivitas tikus kelompok K-. Berdasarkan hasil tersebut dapat dianalisa bahwa semakin tinggi konsentrasi madu Sumbawa yang diberikan, maka aktivitas SGPT dalam darah semakin rendah. Hasil penelitian juga menunjukkan perlu adanya peningkatan konsentrasi maupun variasi konsentrasi lainnya untuk mengetahui konsentrasi paling efektif dalam menurunkan aktivitas SGPT pada kondisi keracunan diazinon.

Rata-rata aktivitas SGPT dalam darah menjadi rendah diakibatkan oleh kemampuan polifenol maupun vitamin C yang terkandung dalam madu Sumbawa yang berperan sebagai antioksidan eksogen yang menghambat radikal bebas pada mekanisme peroksidasi lipid. Polifenol dalam madu Sumbawa yang terhitung sebesar $68.67 \pm 3.51 \mu\text{g/g}$ (**lampiran 8**) dan vitamin C yang telah teruji kualitatif mampu menetralkan radikal bebas dari diazinon dengan cara menyumbangkan elektronnya pada *oxono-organophosphate* agar tidak reaktif kembali, sehingga stress oksidatif dan kerusakan sel dapat terhenti.

Menurut Dhianawaty (2013) polifenol maupun vitamin C memiliki cara kerja yang sama terhadap molekul radikal yaitu dengan menyumbangkan elektronnya pada molekul radikal sehingga radikal bebas yang semula tidak stabil menjadi stabil serta tidak menimbulkan reaksi terhadap sel di sekitarnya. Senyawa fenol merupakan antioksidan yang mampu membentuk ion fenoksida yang dapat memberikan satu elektronnya pada radikal bebas (Saxena, 2013). Senyawa fenol dapat bereaksi dengan radikal bebas ($\text{Ph-H} + \text{ROO}\cdot \rightarrow \text{ROOH} + \text{Ph}\cdot$). Molekul fenol ($\text{Ph}\cdot$) yang terbentuk mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi sehingga menjadi radikal fenol yang stabil walaupun kehilangan elektronnya.

5.2 Aktivitas *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) Dalam Serum Darah Tikus yang Diinduksi Diazinon dan Diberi Madu Sumbawa

Pemeriksaan kerusakan sel-sel hepar selain menggunakan enzim *Serum Glutamic Pyruvic Tranaminase* (SGPT) sebagai biomarker, *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) dengan spesifikasi yang lebih rendah (Akbar, 2009) karena SGOT banyak pula ditemukan di jantung, otot rangka, ginjal, dan

lainnya. *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) berperan dalam metabolisme asam amino dan perpindahan gugus NH_2 dari asam amino ke gugus alfa-keto untuk membentuk asam alfa-keto dan asam amino yang baru dan akan menjadi energy dalam siklus Krebs (Schiff *et al.*, 2011).

Hasil pengukuran aktivitas *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) pada tikus perlakuan dianalisa menggunakan analisa statistika aplikasi *Statistical Package for the Social Science (SPSS) 16.0* dengan uji *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA) dan selanjutnya diuji signifikansi menggunakan uji *Tukey* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan ($p < 0.05$). Hasil aktivitas SGOT dalam darah tikus yang diinduksi diazinon dan diterapi menggunakan madu Sumbawa disajikan dalam **Tabel 5.2**.

Berdasarkan hasil analisa menggunakan uji statistik *Analysis of Variant* (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian terapi madu Sumbawa dengan berbagai konsentrasi pada tikus yang diinduksi diazinon secara per oral dapat menghambat peningkatan SGOT dalam darah secara signifikan ($p < 0.05$). Kelompok kontrol positif (K+) berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok terapi yang ditandai dengan perbedaan notasi pada masing-masing kelompok hasil uji *Tukey*. Pemberian madu Sumbawa konsentrasi 25%, 50%, dan 75% menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ($p < 0.05$). Pada pemberian madu Sumbawa konsentrasi 75% menunjukkan hasil penurunan aktivitas SGOT tertinggi dan menjadi konsentrasi terbaik dalam penelitian ini.

Tabel 5.2 Aktivitas SGOT dalam Serum Darah Tikus Normal, Diinduksi Diazinon dan Terapi Madu Sumbawa

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Aktivitas SGOT (U/L)	Aktivitas SGOT	
		Presentase Kenaikan terhadap K- (%)	Presentase Penurunan terhadap K+ (%)
Kontrol negatif (K-)	64.50 ± 5.00^a	-	-

Kontrol positif (K+)	188 ± 5.35 ^e	191%	-
Perlakuan 1 (P1)	144.50 ± 6.13 ^d	-	23%
Perlakuan 2 (P2)	95.50 ± 2.73 ^c	-	49.20%
Perlakuan 3 (P3)	80.25 ± 2.21 ^b	-	57.31%

Keterangan : notasi a, b, c, d, dan e menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) antar kelompok perlakuan.

Tikus kelompok kontrol negatif (K-) menunjukkan nilai aktivitas SGOT terendah dibandingkan semua kelompok perlakuan yaitu 64.50 ± 5.04 U/L. Menurut Grant (2000) nilai aktivitas SGOT normal pada tikus yaitu berkisar 45.7-80.8 U/L dan nilai aktivitas SGOT kelompok K- termasuk dalam batas normal. Hal ini dikarenakan tikus kelompok K- tidak diberi perlakuan khusus dan hanya diberikan pakan, minum serta perlakuan berupa pembersihan kandang sewajarnya sehingga tikus kelompok K- dapat menjaga aktivitas antioksidan endogen secara normal dan tidak mengalami stres oksidatif karena tidak adanya induksi yang dapat memicu peningkatan radikal bebas dan stres oksidatif.

Nilai aktivitas SGOT yang fisiologis pada kelompok K- dan perbandingan dari literatur dijadikan sebagai acuan keberhasilan terapi kuratif untuk mengetahui aktivitas antioksidan terutama polifenol dan vitamin C yang terkandung dalam madu Sumbawa untuk menekan aktivitas SGOT akibat pemberian diazinon. Nilai aktivitas SGOT merupakan indikator lain kerusakan hepatoseluler dalam jumlah sedikit, namun juga dapat menjadi indikator kerusakan pada organ lain seperti otot, jantung, paru, pankreas, dan lainnya. Selain itu, aktivitas SGOT sebesar 30% ada dalam sitoplasma sedangkan 70% berada dalam mitokondria sehingga apabila terjadi peningkatan jumlah SGOT berhubungan dengan jumlah kerusakan sel (Hall and Jhony, 2012).

Pada tikus kelompok kontrol positif (K+) menunjukkan nilai aktivitas sebesar 188 ± 5.35 U/L (**Tabel 5.2**) berbeda nyata ($p < 0.05$) dan mengalami

peningkatan sebesar 191% terhadap kelompok K-. Peningkatan nilai SGOT berhubungan dengan kerusakan sel hepar yang kaya akan enzim *aminotransferase* dan sebagai lokasi metabolisme utama dalam tubuh. Diazinon yang diinduksikan merupakan senyawa xenobiotik yang dimetabolisme di hepar dan menghasilkan radikal bebas berupa *oxono-organophosphate*, atom sulfur bebas serta gugus *leaving group* (Elersek and Metka, 2012). Sel hepatosit merupakan sasaran utama dari molekul radikal bebas yang terakumulasi dalam hepar karena tersusun atas membran lipid bilayer yang menjadi sasaran radikal bebas untuk mendapatkan elektron dan memicu kerusakan sel akibat gangguan permeabilitas membran tersebut. Permeabilitas membran sel yang terganggu akan mengakibatkan SGOT keluar dari sel meningkatkan nilai SGOT dalam darah.

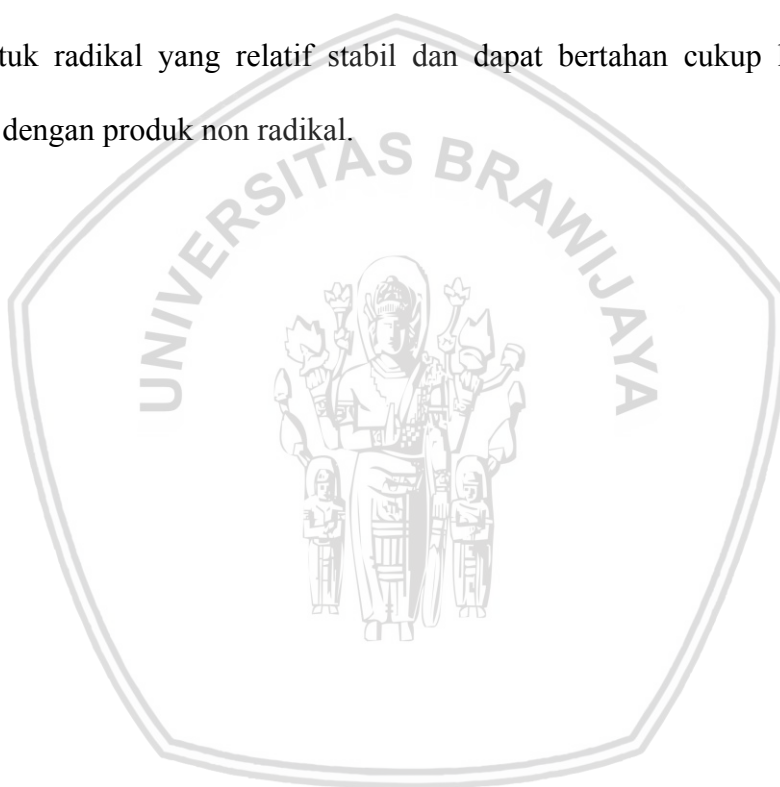
Berdasarkan hasil analisa statistika diketahui bahwa pada kelompok perlakuan yang diberi terapi madu Sumbawa memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0.05$) jika dibandingkan kelompok K+ yang tidak diterapi. Selain itu, penurunan aktivitas SGOT pada kelompok P1, P2, dan P3 terjadi berturut-turut bila dibandingkan dengan K+. Hal ini menunjukkan bahwa terapi madu Sumbawa dengan berbagai konsentrasi mampu menghambat peningkatan aktivitas SGOT. Kelompok perlakuan 1 (P1) dengan pemberian madu Sumbawa konsentrasi 25% menunjukkan tingkat penurunan sebesar 23% terhadap kelompok K+ dengan nilai aktivitas SGOT sebesar 144.50 ± 6.13 U/L. Kelompok P2 dengan konsentrasi madu Sumbawa 50% menunjukkan penurunan sebesar 49.2% dengan nilai aktivitas SGOT 95.50 ± 2.73 U/L. Sedangkan pada kelompok P3 yang diberikan madu Sumbawa 75% mampu menurunkan aktivitas SGOT sebesar 57.31% dengan nilai 80.25 ± 2.21 U/L terhadap kelompok K+.

Kelompok P1, P2, dan P3 menunjukkan penurunan aktivitas SGOT pada ketiga kelompok tersebut. Hal ini menyatakan bahwa madu Sumbawa mampu menurunkan aktivitas SGOT. Kelompok P3 memiliki nilai aktivitas SGOT yang paling normal, karena masih dalam rentang 45.5-80.8 U/L (Grant, 2000), namun tidak sama dengan K- sebagai indikator keberhasilan. Pemberian madu Sumbawa konsentrasi 75% mampu menurunkan aktivitas SGOT paling tinggi bila dibandingkan dengan kelompok P1 dan P2, namun tidak mencapai nilai aktivitas SGOT pada kelompok K-.

Aktivitas SGOT pada P1, P2, dan P3 mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok K+ karena madu Sumbawa mengandung antioksidan berupa polifenol dan vitamin C yang tinggi. Polifenol dalam madu Sumbawa yang digunakan yaitu sebesar $68.67 \pm 3.51 \mu\text{g/g}$ (**lampiran 8**). Diazinon yang masuk secara peroral menghasilkan molekul radikal bebas setelah termetabolisme di hepar. Diazinon yang dihasilkan yaitu molekul *oxono-organofosfat*, gugus sulfur bebas dan *leaving group* yang reaktif terhadap membran lipid sel terutama hepatosit dan merusak membran lipid tersebut. Membran lipid yang rusak terjadi karena sel kekurangan elektron yang telah diambil sehingga permeabilitas sel terganggu. Polifenol dan vitamin C memiliki bekerja dengan cara mendonorkan elektronnya pada molekul radikal sehingga mencegah terjadinya peroksidasi lipid.

Radikal bebas semakin meningkat jumlahnya seiring banyaknya diazinon yang termetabolisme. Peningkatan jumlah radikal bebas dalam tubuh akan menimbulkan kondisi stress oksidatif dan memicu peroksidasi membran lipid sel akibat pemenuhan elektron untuk kestabilan molekul radikal bebas dan bila hal ini terjadi terus-menerus maka semakin banyak pula sel yang rusak bahkan nekrosis.

Oleh sebab itu, peran antioksidan yang didapatkan dari polifenol dan vitamin C sangat penting untuk menghentikan peroksidasi lipid tersebut. Antioksidan berupa polifenol dan vitamin C berperan sebagai agen yang bertanggung jawab menurunkan oksidator sebelum merusak sel, sehingga kerusakan sel yang meluas dapat dicegah. Menurut Widayati (2010) polifenol dan vitamin C bertindak sebagai antioksidan eksogen yang akan menangkap radikal larut air, kemudian membentuk radikal yang relatif stabil dan dapat bertahan cukup lama sampai bereaksi dengan produk non radikal.



BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian madu Sumbawa konsentrasi 75% terhadap tikus yang diinduksi diazinon merupakan konsentrasi terbaik yang dapat menurunkan aktivitas *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) paling tinggi yaitu 36.61% dalam serum darah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.
2. Pemberian madu Sumbawa konsentrasi 75% terhadap tikus yang diinduksi diazinon merupakan konsentrasi terbaik yang dapat menurunkan aktivitas *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGPT) paling tinggi yaitu 36.61% dalam serum darah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

6.2 Saran

Penelitian ini perlu dilanjutkan untuk mengetahui efektifitas madu Sumbawa dengan menggunakan parameter pendukung kerusakan hepar lainnya seperti $\text{TNF } \alpha$ untuk mengetahui tingkat inflamasi seuler, *alkaline phosphatase* (ALP) untuk mengetahui adanya obstruksi dalam saluran empedu, maupun *gamma-glutamyl transferase* (GGT) untuk mengetahui adanya perlemakan di hepatosit untuk dijadikan bahan pertimbangan pada penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi, S., Dian, R., dan Ika M. 2009. *Vitamin C Sebagai Antioksidan*. Fakultas Pertanian, UNS : Semarang.
- Alishahi M.; Mohammadi A.; Mesbah M.; Razi Jalali M. 2016. *Haemato-immunological responses to diazinon chronic toxicity in Barbus sharpeyi*. [Jurnal] Iranian Journal of Fisheries Sciences 15(2) 870-885
- Amiruddin, R. 2009. *Fisiologi dan Biokimiawi Hati*. In : Sudoyo, Aru, W., Setiyohadi, Bambang., Alwi, dan Idrus. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I. Edisi V : Jakarta : Interna Publishing, 627-633.
- Aulia, Zulfa. 2017. *Pengaruh Toksisitas Organofosfat (DIAZINON) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Serta Aktivitas Malondialdehyde Dalam Serum Tikus (Rattus norvegicus)*. [Skripsi] Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya : Malang.
- Berger MM. 2007. *Vitamin C Requirements in Parenteral Nutrition*. Service of Adult Intensive Care Medicine and Burns Centre, University Hospital (CHUV), Lausanne : Swiss.
- Costa, L. G. 2006. *Current Issues in Organophosphate Toxicology*. Clin. Chim. Acta 366 (2006) 1-13.
- Crane, E. 2010. *The Archeaology of Beekeeping*. NY Cornell University Press, Ithaca.
- Dhianawaty, D. dan Ruslin. 2013. *Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Akar Imperata cylindria (L) Beauv. (Alang-alang)*. Departemen Biokimi dan Biomolekuler Fakultas Kedokteran Univ. Padjajran : Bandung.
- Djumadi, Hariyatmi, dan Sugiyono H. 2008. *Pengaruh Pemberian Insektisida Diazinon dan Kurkumin Kunyit (Curcuma domestica) per-ral terhadap Perubahan Struktur Histologis Duodenum Mencit (Mus musculus)*. Jurnal penelitian sains dan teknologi. [Jurnal] Vol.9. No.1.

Program studi biologi. Fakultas MIPA. Universitas Muhammadiyah Surakarta : Yogyakarta.

Edem, V. F., Kosoko, S. A., Akinyoola, O., Owoeye, S. K., Rahamon, dan Arinola, O.G. 2012. *Plasma Antioxidant enzymes, lipid Peroxidation and Hydrogen Peroxide in Wistar Rats Exposed to Dichlorvos Insecticide*. Archives of Applied Science Research 4(4): 1778-1781

Elersek, T., dan Metka F. 2011. *Organophosphorous Pesticides Mechanisms of Their Toksikity*. [Jurnal] Slovenia: National Institute of Biology.

Ellman, Mriam-Rotkin dan Solomon, G. 2009. *Toxic Chemicals in Flea and Tick Collars*. [Jurnal] Natural Resources Defense Council : Amerika Serikat.

Fessenden, R. 2011. *The Many Health Benefit of Raw Forest Honey*. [Artikel] San Diego State University.

Fischer, D. W. 1803. *Classification of Mammals: Above the Species Level*. Columbia University Press : USA.

Grant, K. 2000. *Rat Health Guide*. [Jurnal] Layman's Guide To The Health And Nursing Care Of Rats : USA.

Guyton, A. C. and Hall, J. E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC.

Haeria, H. dan Ugi, A. T. 2016. *Penentuan Aktivitas Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (Ziziphus spina-christi L.)*. Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences 2016 1(2):PP 57-61.

Hall, P. dan Johnny, C. 2012. *What is The Real Function Of The LiverFunction Test*. The Ulster Medical Journal.

Harper, B.; Lukinen, B.; Gervais, J. A.; Buhl, K.; dan Stone, D. 2009. *Diazinon General Fact Sheet*. National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services.

- Hasibuan, R. 2012. *Insektisida Pertanian*. Lembaga Penelitian Universitas Lampung.
- Hayes, W.J., Laws, Jr., E.R. 2010. *Handbook of Pesticide Toxicology. Volume 3. Classes of Pesticides*. New York, NY: Academic Press, Inc., 2010., p. 1052]
- Hudri, F.A. 2014. *Uji Efektivitas Ekstrak Madu Multiflora Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Salmonella typhi*. [Skripsi] Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Iswara, A. 2009 *Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C dan E terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar Allethrin*. [Skripsi] Universitas Negeri Semarang : Semarang.
- Ivanovic, S. R., Dimitrijevic, B., Cupic, V., dan Jezdimirovic, M. 2016. *Downregulation of Nicotinic and Muscarinic Receptor Function in Rats after Subchronic exposure to Diazinon*. [Jurnal] Departement of Pharmacology and Toicology. Belgrade : Serbia.
- Junqueira L. C. and Corneiro, C. 2007. *Organ-organ yang Berhubungan dengan Saluran Pencernaan*. In : Histologi Dasar Teks dan Atlas. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 318-330.
- Kang, K. K, I. D., Kim, R. H., Kwon, J. Y., Lee, J. S., Kang and B. J., Ha. 2008. *The Effects of Extract on CCl₄Induces Liver Injury*. Arch Pharm Ros. Vo. (31): 622-627.
- Kee, J. L. 2007. *Pedoman Pemeriksaan Laboratrium dan Diagnostik*.EGC : Jakarta.
- Kusrianingrum, R. S. 2010. *Perancangan Percobaan*. Edisis ke-2. Pusat Penerbitan dan PERcetakan Unair (AUP) : Surabaya.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gajahmada Unicersity Press : Yogyakarta.

- Lamsal, V. 2007. *Utility of GGT Levels and AST/ALT ratio in Alcoholic Liver disease*. Departement of Biochemistry SDM College of Medical StCiences and Hospital : India.
- Malarkey, D. E., Jhonson K, R. L., Boorman, G., and Maronpot, R. R. 2008. *New Insight into Functional Aspect of Liver Morphology*. Toxicology Pathology 33 : 27-34.
- Malik, A., Salahudin, M., dan Najib, A. 2015. *Determinatio of Total Flavonoid Content of Honey from Bima and Dompu Regency in Sumbawa Island*. [Jurnal] Universitas Muslim Indonesia : Makassar.
- Maula, I. F. 2014. *Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (Jatropha Curcas L.) Pada Tikus Putih Jantan (Rattus Norvegicus) Galur Sprague Dawley Secara In Vivo*. [Skripsi]. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Patricia, V., Zuccato, V., Uddin, J., Schievano, E., dan Maza, F., 2015. *Entomological originof honey discriminated by NMR chloroform extracts in Ecuadorian honey*. [Jurnal] Int. J.Biol. Biomol. Agric. Food Biotechnol. Eng. 9, 4.
- Plumb, D. 2008. *Veterinary Drug Handbook*. 5thEdition Iowa : Blackwell Publishing.
- Raini, M. 2007. *Toksikologi Pestisida dan Penanganan akibat keracunan pestisida*. Media Litbang Kesehatan. Volume XVII. No 3.
- Rao, P. V., Krishnan, K. T., Salleh N., dan Gan, S. H. 2016. *Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review*. University of Malaysia Kelantan : Malaysia.
- Rosida, A. 2016. *Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati*. Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat : Banjarmasin.

- Schiff, E. R, Maddrey, W. C, dan Sorrel, M. F. 2011. *Disease of the Liver*. 11th ed. Lippincot William & Wilkins.
- Suprijono, A., Trisnadi, S., dan Negara, H. P. 2011. *Pengaruh Pemberian Madu terhadap Gambaran Histopatologi Lambung*. Vol. 3, No. 1, Januari - Juni 2011.
- Suryaatmadja, M. 2009. *Clinical Pathology and Medical Laboratory*. Perhimpunan Dokter Spesialis atologi Klinik Indonesia. ISSN 0854-4263.
- Thanos, P., Calvin, B. H., dan Hamilton J., etc. 2016. *Examination of the Addictive and Behavioral Properties of Fatty Acid-Binding Protein Inhibitor SBF126*. Department of Biochemistry, Stony Brook University, Stony Brook, NY : USA.
- Timchalk, C. 2001. *Organophosphate Pharmacokinetic*. Handbook of Pesticide Toxicology, 2nd Ed. Krieger R. Academic Press : San Dieg, 2001 : Vol. 2, pp 398. 936-939.
- Ulansari, S. E. 2017. *Pengaruh Toksisitas Diazinon terhadap Gambaran Histopatologi Duodenum dan Aktivitas SOD dalam Serum Tikus Putih*. [Jurnal] Universitas Brawijaya : Malang.
- Usman, M. R. 2013. *kinetika fotokatalisis diazinon dengan titanium dioksida (tIO_2)*. [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Jember.
- Wati, Y. E., Muktiati Nunuk S., dan Astuti, T. 2013. *Studi Stres Oksidatif: Aktivitas Malondialdehyde dan Aktivitas Superoksida Dismutase Plasma pada Tuberkulosis Paru Lesi Minimal dan Lesi Luas*. Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kesehatan Respirasi RS Syaiful Anwar : Malang.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.
- Widayati, E. 2010. *Okidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioxidant*. Bagian Kimia-Biokimia FK Unissula : Semarang.

- Wu, H. X, Evreux, Gros C., and Descotes, J. 1996. Diazinn Toxicokinetics, Tissue Ditribution and Anticholinesterase Activity in the Rats. [Jurnal] Biomed Environ Sci. 1996 Dec; 9(4): 359-369.
- Wulandari, T. 2008. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (Andrographis Paniculata Ness.) Terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar Dan Aktivitas Glutamat Piruvat Transaminase Serum Mencit (Mus Musculus L.) Yang Terpapar Diazinon*. [Skripsi] Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Yuningsih. 2010. *Penggunaan Asetonitril, $MgSO_4$ dan NaCl untuk Analisa Residu Pestisida DDE (Insektisida Organoklorin), Diazinon dan Fention (Insektisida Organofosfat) Dalam Pakan Ternak Dengan Cara Khromatografi Lapis Tipis*. [Jurnal] Balai Besar Veteriner. Bogor.
- Zulhawa, D. J. 2010. *Daya Hambat Madu Sumbawa Terhadap Pertumbuhan Kuman Staphylococcus Aureus Isolat Infeksi Luka Operasi Rs Islam Amal Sehat Sragen*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.